

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОВИЗОРОВ “ЛОМО” В МИКРОБИОЛОГИИ

© 2011 г. **А. М. Иванов**, доктор мед. наук; **А. Б. Криворучко**, канд. мед. наук;
Н. В. Раздольская, канд. биол. наук; **О. В. Гаврилова**, канд. биол. наук;
Д. В. Заславский, доктор мед. наук

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

E-mail: iamvma@mail.ru

Рассматривается вопрос о преимуществе проведения микроскопических исследований с использованием современных отечественных оптических приборов микровизоров (ОАО “ЛОМО”). Продемонстрированы примеры анализа нативных и окрашенных по стандартным диагностическим методикам препаратов, подготовленных на основе клинических образцов.

Ключевые слова: микровизор, микробиология.

Коды OCIS: 100.2960, 110.0180

Поступила в редакцию 14.05.2010

В настоящее время микроскопия препаратов является широко распространенной методикой, применяемой в практике микробиологических исследований [1]. Эффективность микроскопической диагностики зависит в значительной степени от многих факторов: от оптических свойств микроскопов, качества используемых красителей, способов подготовки препаратов и практических навыков врача-микробиолога.

До недавнего времени в Российской Федерации не выпускались микроскопы с оптико-цифровым каналом наблюдения. На ОАО “ЛОМО” разработано новое поколение микроскопов – микровизоров с особой системой наблюдения, регистрации и обработки микроизображений. На экране дисплея микровизора отображается цветное увеличенное изображение препарата, полученное в проходящем свете (по методу светлого поля, темного поля, либо с помощью фазового контраста). Оценку препарата можно проводить в режиме реального времени как на экране микровизора, так и на экране компьютера. На карту памяти фиксируется запись изображения.

Бактериоскопия является субъективным методом диагностики и окончательное заключение полностью зависит от опыта исследователя [2]. Микровизоры обладают рядом преимуществ по сравнению с классическими микроскопами и открывают пути для стандартизации и повышения эффективности лабораторных исследований.

Мгновенное получение цифрового изображения в поле зрения позволяет оценивать микроскопическую картину самостоятельно или коллективно, а также, используя цифровые сети, передавать данные в любую страну мира.

Наличие цифровой системы документации микроизображений позволяет осуществлять контроль субъективного этапа микроскопической диагностики. Исследователь может создать библиотеку изображений на каждого пациента и в зависимости от принятого диагностического решения сопроводить каждое изображение примечаниями: отметить диагностически значимые элементы в препарате, в том числе возбудителя заболевания.

Наиболее распространенным методом, используемым для оценки качества бактериоскопической диагностики, является профессиональное тестирование. Наличие доступной базы микроизображений позволяет сравнивать исследуемый образец с контрольными препаратами.

Целью данной работы явилась оценка возможности использования модернизированной модели микровизора медицинского μ Vizo-103 для микроскопической диагностики заболеваний мочеполовой системы.

Для подготовки панели микрофотографий были выбраны препараты различного типа: неокрашенные (витальные) и окрашенные (фиксированные). Окрашивание проводилось в соответствии со стандартными методиками с ис-

пользованием 1% метиленового синего, а также по методу Грама.

В качестве исследуемых клинических образцов у мужчин использовался соскоб со слизистой уретры и секрет предстательной железы, у женщин – соскоб со слизистой влагалища и соскоб со слизистой канала шейки матки. Качество витальных препаратов оценивалось на примере *Trichomonas vaginalis* и *Candida spp.* В ходе работы была подготовлена коллекция цифровых микрофотографий с применением различных настроек параметров изображений. Для получения слайдов высокого качества проводили регулировку по следующим параметрам: яркости, контрастности, насыщенности, резкости.

Метод микроскопии нативных препаратов широко используется в микробиологических лабораториях для диагностики различных заболеваний урогенитального тракта. Для оценки общей морфологии используется объектив с увеличением $40\times$, позволяющий быстро просмотреть достаточно большую площадь. После обнаружения объекта требуется более детальный его анализ, поэтому необходим переход к большему увеличению.

Микровизор оснащен программой, позволяющей осуществить дополнительное цифровое увеличение изображения без смены объектива. На рис. 1а, б, в приведены микроизображения нативного препарата – дрожжеподобного гриба *Candida spp.* при различных цифровых увеличениях ($1\times$; $2\times$; $4\times$) при следующих настройках: яркость 6,7; контрастность 1; насыщенность 1.

На примере возбудителя трихомониаза показаны изображения различных морфологических форм *T. vaginalis*, выделенных из клинического материала (рис. 1). Типичные клетки грушевидной формы со жгутиками подвижные выделены от пациентки с острой формой трихомониаза (рис. 1г). Другие (рис. 1д) – округлой формы от больного с хронической формой. Видно, что клетки данной формы отличаются от типичных форм по следующим признакам: гранулированностью цитоплазмы, отсутствию подвижности и размерами.

Возможность дополнения микровизора темнопольным конденсором или дополнительным фазово-контрастным приспособлением значительно повышает качество микроскопической диагностики воспалительных заболеваний мочеполовой системы. Так на рис. 1 (е, ж) наглядно продемонстрированы особенности грушевидных и округлых клеток, выявленных с исполь-

зованием темнопольного устройства КОН-7Т, устанавливаемого на микровизор. Это позволяет увидеть характерные элементы жгутикового аппарата (подвижные и неподвижные жгутики, ундулирующая мембрана, аксостиль). Зарегистрировать изображение подвижных грушевидных форм сложно, но парализованные жгутики округлых форм отчетливо видны. У округлых форм отсутствует аксостиль и ундулирующая мембрана.

Следует отметить, что некоторые методики подразумевают количественный учет клеток, с последующим определением их линейного размера. Микровизор обеспечивает данные функции. Учет количества микроорганизмов в поле зрения удобно проводить при включении режима “работа с указкой”. С помощью этой функции можно определять соотношение различных морфологических форм трихомонад (грушевидных к округлым).

Крайне удобна в микровизоре функция определения линейных размеров объектов, которая не требует установки дополнительного программного обеспечения. С помощью данной функции измеряются размеры объекта по горизонтали (X), вертикали (Y), по диагонали прямоугольника $X-Y$ (L), а также площадь прямоугольника ($S_{пр.}$) и вписанного в него площадь овала ($S_{ов.}$). Каждое изображение сопровождается учетной записью по исследуемому объекту.

Метод окраски препаратов 1% метиленовым синим является общераспространенным и широко применяется в микробиологической практике [3]. На рис. 2 (а, б) продемонстрированы клинические препараты из влагалища женщины с выявленным возбудителем трихомониаза – *T. vaginalis*. Данный возбудитель трудно диагностируется при окраске метиленовым синим. С использованием микровизора удалось показать основные цитоморфологические признаки, необходимые для его идентификации: зернистая цитоплазма, продолговатое ядро в центре клетки.

На рис. 2в, г показаны клинические препараты отделяемого уретры мужчины с выявленным возбудителем гонореи – *N. gonorrhoea*. Этот возбудитель характеризуется особой бобовидной формой клеток, которые располагаются парно вогнутыми сторонами друг к другу [2].

Согласно руководящим документам по диагностике гонореи, необходимо подтверждение диагноза с использованием окраски по Граму. Положительный диагноз ставится на основа-

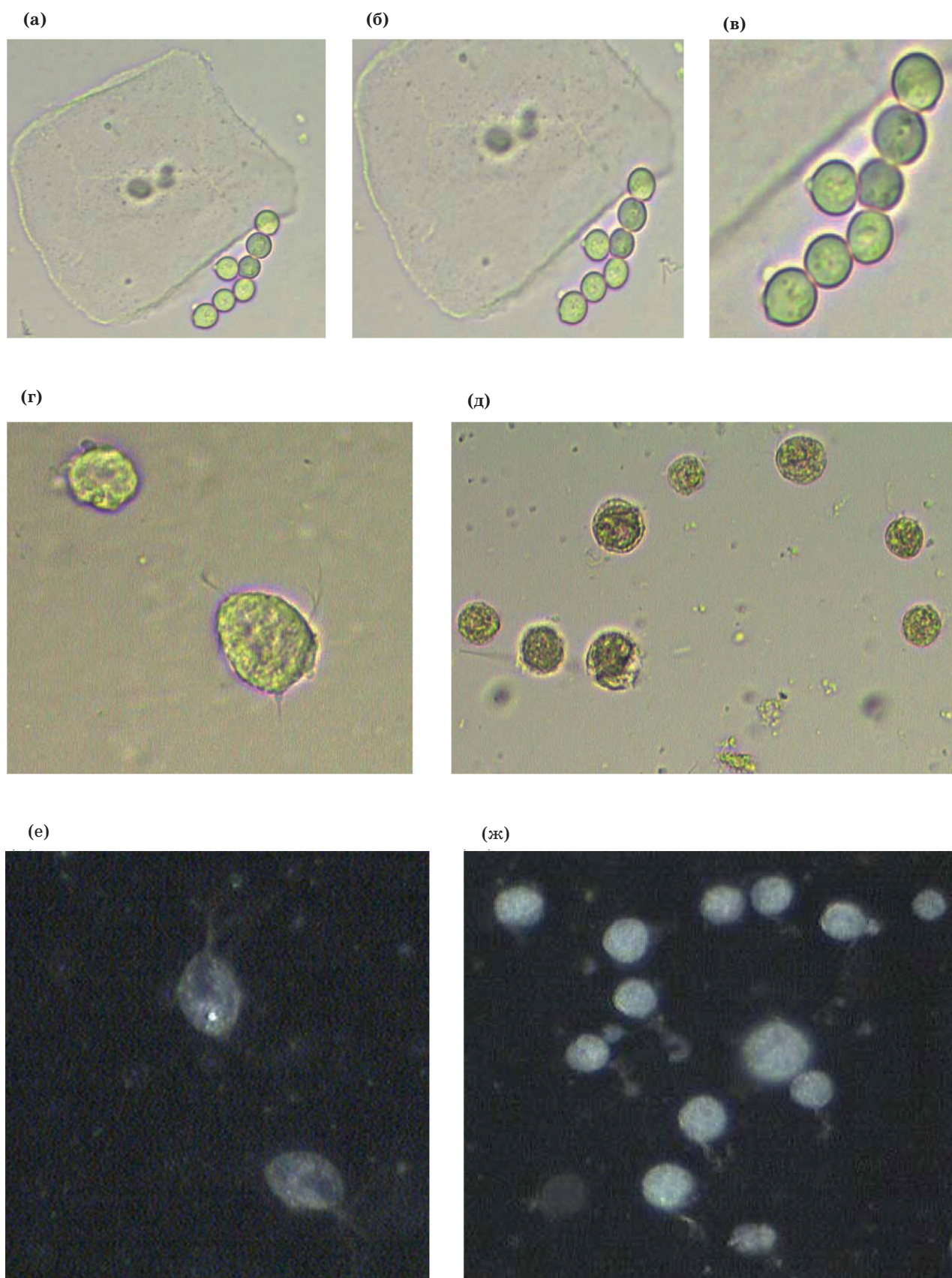


Рис. 1. Неокрашенные, витальные препараты. Увеличение объектива 40 \times . а, б, в – отделяемое влагалища с выявлением дрожжеподобных грибов рода *Candida* spp., цифровое увеличение 1 \times , 2 \times и 4 \times ; г, е – грушевидная форма *T. vaginalis* в светлом и темном поле; д, ж – округлая форма *T. vaginalis* в светлом и темном поле.

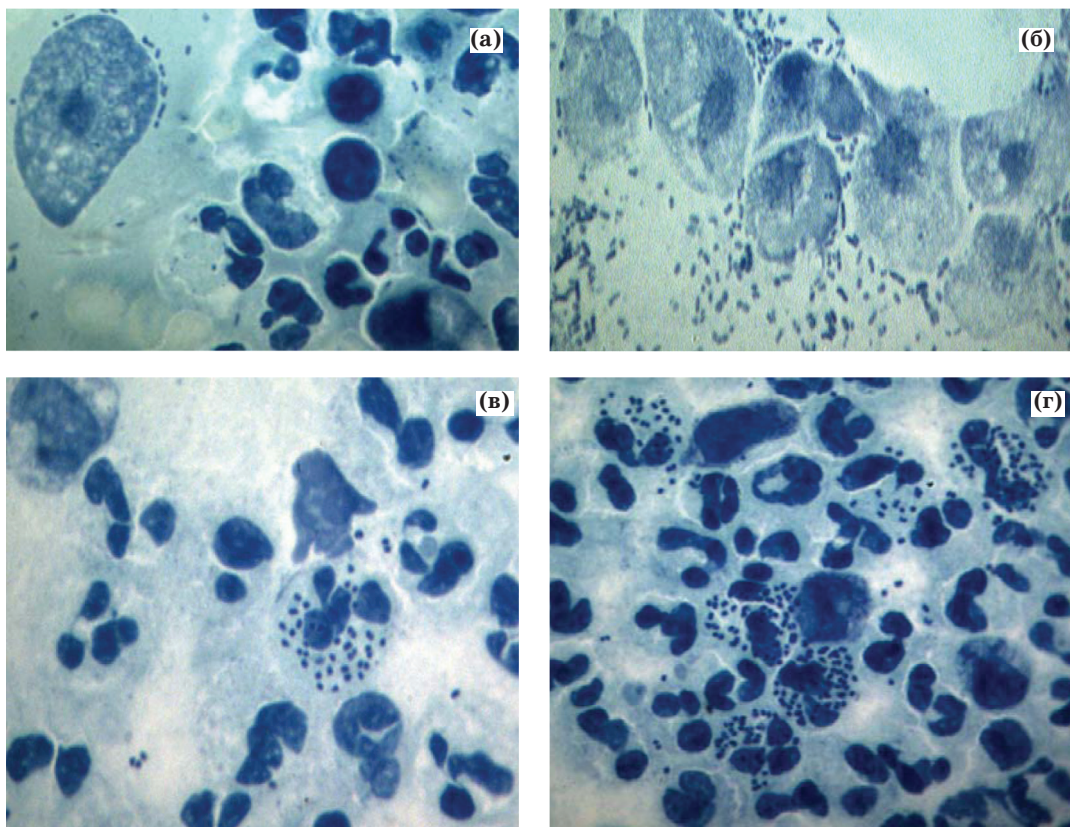


Рис. 2. Препараты, окрашенные 1% метиленовым синим. Увеличение объектива 100×. а, б – отделяемое влагалища с выявлением *Trichomonas vaginalis*; в, г – отделяемое уретры с выявлением *Neisseria gonorrhoea*.

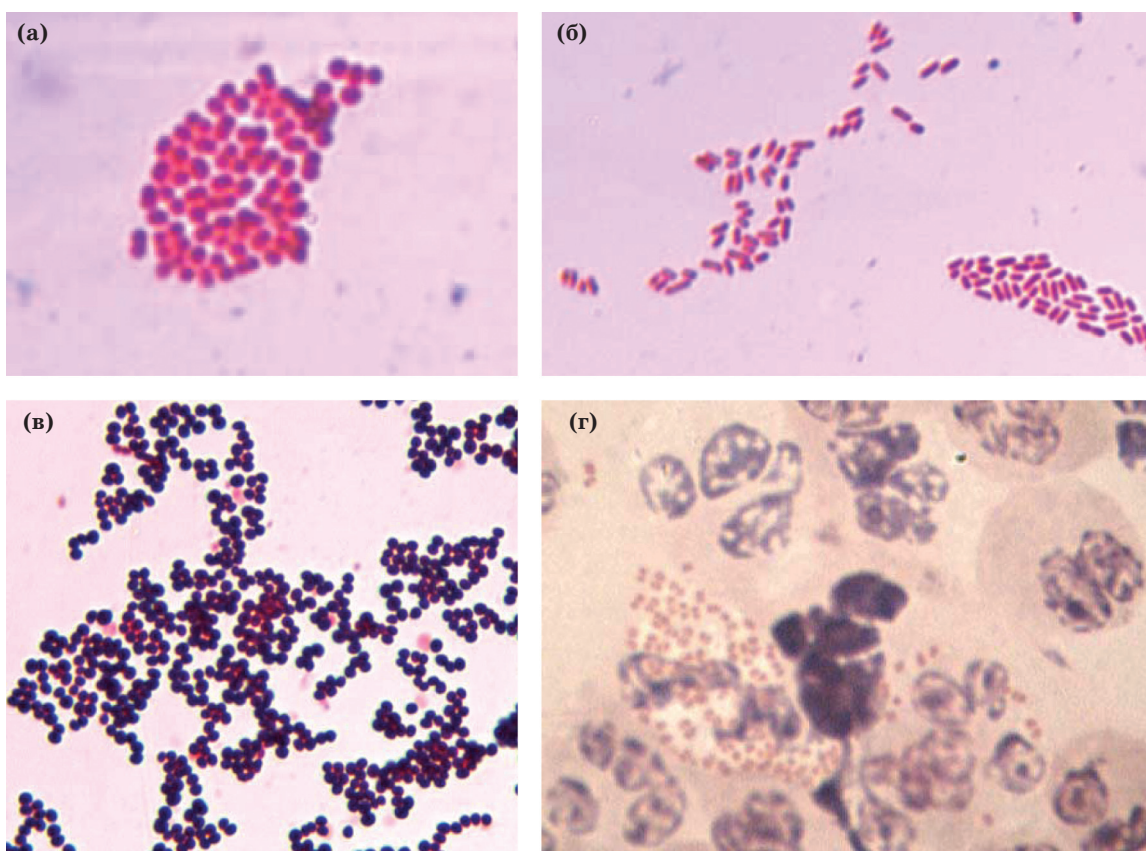


Рис. 3. Окрашенные препараты по методу Грама. Увеличение объектива 100×. а – грамотрицательные кокки, *Acinetobacter* spp.; б – грамотрицательные палочки, *Pseudomonas* spp.; в – грамположительные кокки, *Staphylococcus* spp.; г – грамотрицательные диплококки, *Neisseria gonorrhoea*.

нии выявления граммотрицательных внутриклеточных и внеклеточно расположенных диплококков (рис. 3г). Окрашивание по методу Грама широко используется в микробиологии. Использование микровизора позволяет точно проводить дифференцировку различных граммотрицательных (рис. 3а, б) и грамположительных (рис. 3в) микроорганизмов благодаря правильно настроенной цветопередаче.

В случаях, когда наблюдается типичная микроскопическая картина, возбудитель легко идентифицируется или наоборот – нет сомнений в его отсутствии, микроскопист производит съемку соответствующих полей зрения и сохраняет их на карте памяти микровизора в папке с номером пробы пациента [2]. Если у специалиста возникли сомнения в правильности оценки увиденного, то он привлекает коллег для совместного просмотра препарата.

После выполнения серии снимков и при сохранении их на внешний носитель расширяется круг лиц, способных оценить материал. В конечном итоге, после микроскопической оценки поступившего в лабораторию клинического материала для каждого пациента должна быть создана база электронных изображений, позволяющих стороннему эксперту ретроспективно оценивать качество микроскопической диагностики в данной лаборатории.

Таким образом, использование микровизора позволяет добиться ряда преимуществ по сравнению с традиционными микроскопическими устройствами:

- мгновенное получение цифрового изображения, соответствующего по своим характеристикам оригиналу;
- цифровая документация изображений и решение проблемы субъективности микроскопирования;
- возможность коллегиальной оценки микроскопической картины;
- простота и удобство проведения экспертного профессионального тестирования;

– возможность “цифрового” увеличения изображения;

– удобство и простота определения соотношения размеров различных морфологических форм;

– светодиодная система освещения, позволяющая проводить тонкую регулировку яркости;

– щадящий режим микроскопирования (снижение зрительного утомления исследователя).

Микровизоры, в отличие от цифровых систем визуализации (микроскоп + компьютер), более компактны, что позволяет размещать их в условиях небольших лабораторий и упрощает режим дезинфекции.

Преимуществом микровизора перед классической микроскопической техникой является возможность создания цифровой базы изображений, сопровождаемых текстовыми примечаниями и отмеченным на изображении возбудителем.

При использовании микровизора наблюдается уменьшение площади поля зрения по сравнению с обычным световым микроскопом, но это не оказывает существенного влияния на результативность исследования.

В результате комплексной оценки было сделано заключение о перспективности использования микровизора для качественной микроскопической диагностики заболеваний урогенитального тракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций, передаваемых половым путем. СПб.: Фолиант, 2004. 125 с.
2. Криворучко А.Б. Совершенствование методов контроля качества микробиологической диагностики инфекций, передаваемых преимущественно половым путем // Автореф. канд. дис. СПб.: ВМедА, 2008. 24 с.
3. Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций. М.: Медицинская книга, 2003. 336 с.